

B-ZELL-ALLO-ANTIGENE
BEI ZÖLIAKIE

Petra Reisinger

1900

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 26 81 77

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Heinz Spiess

B-ZELL-ALLO-ANTIGENE BEI ZÖLIAKIE

Eine Untersuchung an

42 Patienten und ihren Familien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnmedizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Petra Reissinger

aus

München

1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof.Dr.med.Albert

Mitberichterstatter : Prof.Dr.med.Spiess

Dekan : Prof.Dr.med.Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 24. April 1980



Inhaltsverzeichnis

I. Einführung

II. Das HLA-System

1. Vorbemerkung
2. Geschichtliches
3. Die Genetik des HLA-Systems
4. Klinische Bedeutung der Gewebs-
antigene des Menschen
 - a) HLA und Transplantationen
 - b) HLA und Erkrankungen
5. Lymphozytär definierte Antigene
(MLC)
6. Serologische Definition von B-Zell-
spezifischen Allo-Antigenen

III. Aufgabenstellung

IV. Material und Methodik

1. T-Zell-Präparation
2. B-Zell-Präparation

V. Ergebnisse

1. Statistische Anmerkung
 - a) χ^2 -Wert
 - b) p-Wert
 - c) relatives Risiko
2. Phänotypfrequenzen
3. Haplotypfrequenz
4. Segregationsanalyse der HLA-Antigene
5. Segregationsanalyse der Haplotypen
6. B-Zell-Allo-Antigene

VI. Besprechung

VII. Zusammenfassung



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548314_0003

I. Einführung

Die Zöliakie stellt eine Enteropathie dar, die meist zwischen dem zweiten bis dritten Lebenshalbjahr auftritt und verbunden ist mit einer Abflachung der Jejunalschleimhaut infolge Glutenunverträglichkeit. Die Krankheit ist mit glutenfreier Diät zu heilen.

Erstmals wurde sie 1888 von Samuel Gee (48) beschrieben, der sie von der Abdominaltuberkulose abgrenzte und als eigene Krankheit erkannte, 1908 führte Herter (56) Stuhlanalysen bei Zöliakiepatienten durch und fand unter anderem gram+ Laktobakterien. Parallel dazu empfahl Heubner (57) ein Jahr später "Frauenmilch als Diät".

Die dritte wichtige Phase in der Geschichte der Zöliakie leitete 1950 Dicke (42) ein, als er herausfand, daß der Weizenkleber Gluten bzw. dessenalkohollösliche Fraktion das α - oder α -Gliadin das krankmachende Agens (55, 66, 67) ist. Vier Jahre später, 1954, beschrieb dann Paulley (95) Veränderungen an der Dünndarmschleimhaut.

Grundsätzlich muß davon ausgegangen werden, daß Glutenunverträglichkeit das ganze Leben lang besteht (83). Nur 10 % verlieren sie (passagere Form). In Mitteleuropa kommt ein Patient auf 1000 bis 2000 Geburten (114). In Irland dagegen erkrankt bereits jeder Vierhundertste an Zöliakie (88). Dabei zeigt sich eine Verteilung der Geschlechter wie folgt (32, 111):
männlich : weiblich = 1 : 1,5.

Die Symptome der glutenabhängigen Enteropathie sind vielfältig und müssen keinesfalls alle gleichzeitig vorhanden sein. Sie können auch sehr gering ausgeprägt sein oder fehlen. In erster Linie sind Gedeihstörungen zu nennen, d.h. die Patienten sind minderwüchsig, wenn die Diagnose Zöliakie nicht innerhalb von sechs Monaten nach Beginn der glutenhaltigen Nahrungsaufnahme gestellt wurde. Es folgen veränderte Stühle, großer Bauch, Blässe, Erbrechen, Psychologische Veränderungen, Appetitlosigkeit, Muskelhypotonie, Ödeme (28, 83, 123). Seit 1957 (107) kann die Diagnose durch eine Saugbiopsie gesichert werden, wenn

- eine abnorme Jejunal mukosa unter Normalkost besteht, und
- sich die Mukosa unter glutenfreier Diät bessert, sowie
- Schleimhautveränderungen unter erneuter Glutenbelastung wieder auftreten.

Die Mukosa ist dabei in der Regel uniform abgeflacht und zottenlos. Der Mitoseindex ist erhöht. Man findet vermehrte Entzündungszellen (Lymphozyten, Plasmazellen). Das mikroskopische Bild zeigt deshalb eine Zottenabflachung (53).

Da das klinische Bild auch auf andere Darmkrankheiten schließen läßt, war es notwendig, differentialdiagnostische Überlegungen anzustellen, um die Indikation zur Dünndarmsaugbiopsie zu rechtfertigen. Neben den schon oben erwähnten Symptomen ist dabei ein erhöhter Gliadinantikörpertiter bei 60 % der unbehandelten Patienten (er verschwindet unter Diät und tritt nur aus-

nahmsweise bei erneuter Belastung wieder auf), eine Xyloseausscheidung von weniger als 10 % der Testdosis mit dem 5-Stundenurin (U-XT) verringerte Corticalisbreiten bei 64 % der unbehandelten Patienten sowie die pathologisch veränderten Werte des Hämoglobins und Gesamteiweißes zu nennen. Harms (53) empfiehlt deshalb folgenden "diagnostischen Fahrplan für das zöliakieverdächtige Kind in der Erstmanifestationsphase der Erkrankung":

1. Venöser 1-Stunden-Xylosetest unter strikter Einhaltung der Normalkost bis zum Testbeginn.
2. Bei der für den V-XT (venöser D-Xylosetest) notwendigen Blutentnahme gleichzeitige Abnahme für Hb, das besonders interessierende MCV (Erythrozytenvolumen), das Serum-Eisen und das Gesamt-Eiweiß.
3. Messung der Corticalisdicken der Metacarpalia II-IV am Röntgenbild der Hand.

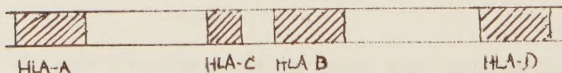
Bei vorübergehend glutenfrei ernährten älteren Patienten kann sich die Biopsieindikation allerdings nur von der Anamnese herleiten.

II. Das HLA-System

1. Vorbemerkung

Analog zu den roten Blutkörperchen besitzen die weißen Blutkörperchen codominant vererbliche eigene Blutgruppen, die Leukozyten-Iso-Antigene. Diese Human-Lymphozyte-Antigens (HLA) sind Zelloberflächenantigene, die auf allen kernhaltigen Zellen und den Thrombozyten im Gewebe und im Serum zu finden sind. Da dieses immunologische System für das Erkennen "Fremdem von Eigenem" hauptsächlich verantwortlich zeichnet und deshalb bei Transplantationen von großer Bedeutung ist, wird es auch als Haupt-Histokompatibilitäts-Genkomplex bezeichnet. Dieser Genkomplex ist beim Menschen auf dem Chromosom C6 lokalisiert (65, 70). Auf ihm finden sich mehrere, eng beieinander liegende Genorte. Die Genprodukte der loci HLA-, A, B und C sind serologisch definiert, während HLA-D-Antigene in einem zellulären Testsystem bestimmt werden.

Die Genorte auf dem Chromosomen können graphisch wie folgt dargestellt werden:



2. Geschichtliches

Dausset stellte 1954 fest (37), daß im Rahmen von Kreuz-Proben für Bluttransfusionen agglutinierende Antikörper gefunden werden können, die nur mit Leukozyten reagieren. Vier Jahre später beschrieb er dann das erste Leukozyten-Iso-Antigen MAC, jetzt HLA-A 2 und A 28 genannt (38). 1962 beschrieb van Rood (101) das erste diallelische System mit den Spezifitäten 4 a und 4 b. In den folgenden Jahren brachte die Zusammenarbeit von verschiedenen Wissenschaftlern (26, 33, 69, 96) aus mehreren Ländern auf dem dritten Histo-Kompatibilitäts-Workshop 1967 in Turin die Erkenntnis, daß die meisten Leukozyten-Antigene einem einzigen komplexen immungenetischen System angehören, das von einer Region eines einzigen Autosomenpaares genetisch determiniert wird. Dieses System erhielt von der Weltgesundheitsorganisation die offizielle Bezeichnung HLA.

Der vierte internationale Histo-Kompatibilitäts-Workshop von 1970 in Los Angeles (Joint Report 1970) (62) lieferte die Beweise für die Aufteilung des HLA-Systems in zwei loci mit jeweils multiplen Allelen. In den darauf folgenden Jahren wurden weitere HLA-Spezifitäten zu den genannten loci A und B

entdeckt (25). Außerdem wurde ein dritter locus (HLA-C) gefunden (80, 116).

3. Die Genetik des HLA-Systems

Aufgrund von Familien- und Bevölkerungsuntersuchungen weiß man, daß die HLA-Antigene als codominante Merkmale vererbt werden. Genetisch treten sie als Allele mit drei eng verbundenen Genorten HLA-A, HLA-B, (Joint Report 1970) (62) und HLA-C auf (108), die auf dem Chromosom in der Reihenfolge HLA-A-C-B lokalisiert sind (76). Locus C ist dabei von untergeordneter Bedeutung. Er liegt in sehr enger Nachbarschaft zu locus B.

Es kann also jedes Individuum mit seinem diploiden Satz des HLA-Chromosoms maximal sechs verschiedene HLA-A, B-, C-Antigene bestimmen. Ein solcher Phänotyp ist zum Beispiel

HLA-A1, A2, B17, B12, CW5 und CW6.

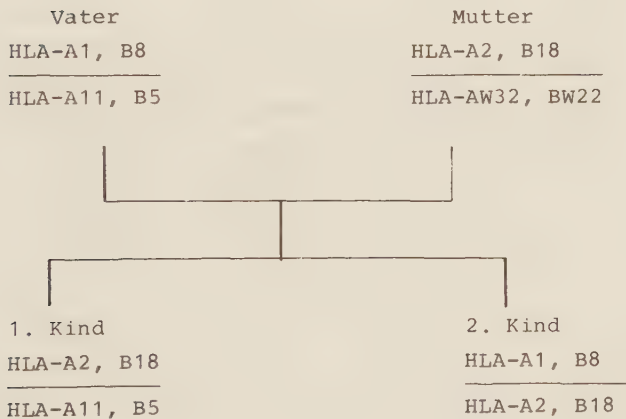
Der korrespondierende Genotyp könnte unter vielen anderen Möglichkeiten

HLA-A1, -B17, CW6/A2, B12 und CW5

sein. Daraus ergibt sich, daß HLA-A1, B17 und CW6

auf einem Chromosom codiert und als Einheit in den jeweiligen Familien zusammen vererbt werden. Diese Verbindung von gekoppelt vererbten Antigenen stellt die eigentliche Vererbungseinheit des HLA-Systems dar und wird als Haplotyp bezeichnet. Jedes Individuum besitzt also einen väterlichen und einen mütterlichen Haplotypen, so daß die Gesamtzahl der HLA-Antigene sechs beträgt.

Ein Beispiel dazu aus der vorliegenden Familien-
untersuchung mit den Genen des A- und B-locus



Nur ein Crossing-over kann die Gesetzmäßigkeit eines bestimmten Hyplotypen verändern (27). Der wird in dieser neuen Form dann weitervererbt. Bestimmte Haplotypen, wie zum Beispiel HLA-A1, B8, HLA-A2, B12,

HLA-A3, B7 kommen besonders häufig vor, während andere HLA-A, B-Genkombinationen selten sind. Bei einigen dieser Haplotypen fällt auf, daß die Frequenzen der beteiligten Antigene für sich allein nicht hoch genug sind, um eine derartige Häufigkeit des daraus hervorgehenden Haplotyps zu erklären. Eine solche Situation bezeichnet man als eine Störung des Kopplungsgleichgewichts (linkage equilibrium) (2, 10). Der Grad des Kopplungsungleichgewichts wird üblicherweise an der Differenz zwischen erwarteter und beobachteter Haplotypfrequenz gemessen (= Delta-Wert).

Folgende Antigene des HLA-Systems waren bisher bekannt (Liste der offiziell anerkannten HLA-Antigene WHO Terminology Report 1976):

<u>A Locus =</u>	<u>B Locus =</u>	<u>C Locus =</u>
HLA-A1	HLA-B5	HLA-CW1
HLA-A2	HLA-B7	HLA-CW2
HLA-A3	HLA-B8	HLA-CW3
HLA-A9	HLA-B12	HLA-CW4
HLA-A11	HLA-B13	HLA-CW5
HLA-A28	HLA-B14	
HLA-AW29	HLA-B18	
HLA-AW23	HLA-B27	
HLA-AW24	HLA-B15	
HLA-AW25	HLA-BW16	
HLA-A26	HLA-B17	
HLA-AW30	HLA-BW21	
HLA-AW31	HLA-BW22	
HLA-AW32	HLA-BW35	
HLA-AW33	HLA-B37	
HLA-AW34	HLA-BW38	
HLA-AW36	HLA-BW39	
HLA-AW43	HLA-B40	
	HLA-BW41	

4. Klinische Bedeutung der Gewebsantigene des Menschen

a) HLA und Transplantationen

Neben dem ABO-System ist das HLA-System der wichtigste genetische Faktor für den Erfolg einer Transplantation (3, 37, 39). Vor allem bei Nierentransplantationen (40, 59, 87, 92), bei Verpflanzungen von Knochenmark (115) und bei Thrombozytentransfusionen (127) sind die Überlebenszeiten länger bei HLA-identischen Spendern und Empfängern. Hors et al. (60), Opelz et al. (93), Patel et al. (94) und Mickey et al. (87) berichten über eine Überlebenschance von HLA-identischen Geschwisternieren nach einem Jahr von 100 %, im Vergleich zu 83 % bei Nieren von nicht HLA-identischen Spendern. Eine geeignete Spenderauswahl ist also unter anderem mit Hilfe der Untersuchung von Histo-Kompatibilitäts-Antigenen von Spender und Empfänger möglich. Leider ist die Beziehung zwischen HLA-Kompatibilität und klinischem Erfolg bei nicht verwandten Spendern nicht so eindeutig. Sie liegt nur im Grenzbereich statistischer Signifikanz (87). Es wird deshalb vermutet, daß in enger Nachbarschaft zu den HLA-loci andere wichtige Transplantationssysteme liegen (z.B. der MLC = HLA-D-locus, s.u.). So werden bei Knochenmarktransplantationen, bei denen immunkompetente Zellen übertragen werden, nur HLA- und MLC-identi-

sche Geschwister als geeignete Spender angesehen (115). Trotzdem kann es auch dann zur Abstoßung der Spenderzellen kommen, was darauf hindeutet, daß noch wesentliche Transplantationssysteme auf anderen Chromosomen lokalisiert sein müssen.

b) HLA und Erkrankungen

Neben der Bedeutung als Gewebeverträglichkeitsfaktoren bei Organtransplantationen und als Erbfaktor bei Vaterschaftsfeststellungen spielen die Leukozyten-Iso-Antigene eine Rolle als Nachweis für die Empfänglichkeit bestimmter Krankheiten, so zum Beispiel

Zöliakie	HLA-B8 (4,44,49,52,77,82)
Erwachsenensprue	HLA-B8 (45,114)
Dermatitis Herpetiformis	HLA-B8 (125)
Ankylosierende Spondylitis	HLA-B27 (29,109,113)
Reiter-Syndrom	HLA-B27 (1,31,54,71)
Iridozyklitis	HLA-B27 (30,43,79)
Juvenile rheumatische Arthritis	HLA-B27 (100)
Arthritis psoriatica	HLA-B13, HLA-B17, B27 (129)
Multiple Sklerose	HLA-A3, HLA-B7, HLA-B18, HLA-DW2 (15,22,23,24,41,61,90,117)
Jeveniler Diabetes	HLA-B8 (35,91,117)
Chronisch aggressive Hepatitis	HLA-B8 (78)
Myasthenia gravis	HLA-B8 (21,46,47,98)
Morbus Addison	HLA-B8, HLA-DW3 (99)
Morbus Basedow (autoimmun-Thyreoditis)	HLA-B8 (117)
Psoriasis	HLA-B13, HLA-B17 (104,110)

Bei dieser Aufstellung fällt auf, daß schon lange bekannte gruppenverwandte Erkrankungen wie Zöliakie, Erwachsenenrupe und Dermatitis herpetiformis Dühring jeweils mit dem gleichen HLA-Antigen verbunden sind, daß die Assoziation fast ausschließlich die Gene des 2. locus betrifft und daß es bei diesen Krankheiten mehr oder weniger deutliche Beweise für die Teilnahme immunologischer Faktoren in der Pathogenese gibt.

Die HLA-Antigene sind dabei selbst nicht direkt an der Pathogenese beteiligt. Ein Beweis dafür ist die Tatsache, daß nicht alle Patienten das gleiche Antigen besitzen. Darüber hinaus werden Umweltfaktoren, wie zum Beispiel Viruserkrankungen, als zusätzliche "Ursache" erörtert. Ein Beispiel dafür ist die Erkrankung nur eines Kindes bei eineiigen Zwillingen (89). Die Untersuchung der HLA-Antigene kann in einigen Fällen also eine diagnostische Hilfe sein, wobei die Assoziation zu den einzelnen Krankheiten einen verschieden hohen Grad erreicht. Da es sich bei den HLA-Antigenen um genetische Kennzeichen handelt, die von den hypothetischen Krankheitsgenen durch Rekombination getrennt werden können, kann ihre diagnostische Anwendung niemals eine Sicherheit wie zum Beispiel ein Enzymtest oder ein Antikörpernachweis erreichen.

5. Lymphozytär definierte Antigene (MLC)

Neben den serologisch definierten Antigenen HLA-A, B und C sind auf dem Chromosom C6 noch sogenannte lymphozytär definierte Zelloberflächenmerkmale lokalisiert, die klinisch, besonders bei Transplantationen von Bedeutung sind (12).

Bach et al. (19) entwickelte 1967 ein Testverfahren, das heute als gemischte-Leukozyten-Kultur (MLC) bezeichnet wird. Er hatte schon 1964 zusammen mit Hirschhorn (17) bei dem Versuch, ein "in-vitro" Maß für die Histokompatibilität zu erhalten, Lymphozyten von verschiedenen Individuen kultiviert. Dabei stellte sich heraus, daß nach einigen Tagen Kultur der Grad der Blastzellen-Transformation der Unverträglichkeit der Antigene entsprach. Die Stärke der Reaktion war also proportional der genetischen Verschiedenheit der beiden untersuchten Individuen. Bei der MLC wird die Bildung von Blastzellen an der Einbaurate von radioaktivem H³-Thymidin gemessen.

Bald wurde es notwendig, die Zweiwegsreaktion von MLC (A-B) in zwei Einwegsreaktionen aufzuteilen (A-B) und B-A). Dabei werden Zellen des einen Individuums durch Bestrahlung oder Mitomycin zwar in

ihrer Teilungsfähigkeit gehemmt, behalten aber ihre Antigenität und stimulieren die Lymphozyten des anderen Individuums zur Bildung von Blastzellen (18).

$A+B_m$ A-Blasten

$B+A_m$ B-Blasten

A = Responder, B = Stimulator

Index m für: Mitomycin-behandelt.

Untersuchungen von nicht verwandten HLA-A, -B-identischen Personen zeigten eine gegenseitige Stimulation in neun von zehn Fällen in der MLC (84, 85, 86, 128). In einigen Familien fand sich eine Ausnahme von der Regel, daß HLA-AB-identische Geschwister einander nicht stimulieren: HLA-A,-B-identische Geschwister stimulierten und HLA-nicht-identische Geschwister waren negativ (20). Dies veranlaßte zu dem Schluß, daß ein vom klassischen HLA-System getrennter, aber eng mit diesem gekoppelter Genort (heute HLA-D) die Lymphozyten stimulierenden Strukturen codiert (13). Diese MLC-Antigene verhalten sich ebenfalls allelisch und sind mit bestimmten SD-Haplotypen hoch assoziiert. Zur Definition der einzelnen Allele des HLA-D-locus wurden homozygote Referenzzellen (typing-cells) verwendet, wobei eine zu testende

heterozygote Lymphozytenprobe A/X mit der homozygoten Zelle A/A eine Einweg-Nichtstimulation aufweist. Dagegen wird die homozygote Zelle A/A X in A/X als fremd erkennen und mit einer Stimulation reagieren (20).

$A/X + (A/A)_m$	keine Stimulation
$A/A - (A/X)_m$	Stimulation

Homozygote Referenzzellen werden dabei zum einen unter Ausnutzung des Kopplungsungleichgewichts zwischen HLA-A, -B und -D von Familien gewonnen, bei denen die Eltern einen HLA-Haplotypen gemeinsam haben (6, 7) und zum anderen von der Nachkommenschaft von Vetternehen, bei denen eine Chance von 1:16 für Homozygotie besteht (122).

So wurde es möglich, die Verteilung einer Anzahl von HLA-D-Antigenen in der nicht verwandten Bevölkerung zu bestimmen, indem verschiedene Typisierungszellen benutzt wurden.

Der Joint Report MLC 1977 nennt acht HLA-D Spezifitäten (64):

HLA-DW1
HLA-DW2
HLA-DW3
HLA-DW4
HLA-DW5
HLA-DW6
HLA-DW7
HLA-DW8

Im Laufe der weiteren Erforschung der MLC stellte sich heraus, daß das Kopplungsungleichgewicht zwischen dem SD-locus HLA-B und dem LD-locus HLA-D ziemlich hoch ist (63). Dies wird auch durch die Tatsache bestätigt, daß 10 % der HLA-A, B-identischen Paare keine gegenseitige Stimulation aufweisen, dagegen nur eines von 500 willkürlich ausgesuchten Paaren MLC-negativ ist.

Die charakteristischen HLA-A,-B und -D Haplotypen mit großem Kupplungsungleichgewicht sind (50):

A3, DW35, DW1
A3, B7, DW2
A1, B8, DW3
A2, B12, DW4

6. Serologische Definition von B-Zell-spezifischen Allo-Antigenen

Ausgehend von Ergebnissen bei der Maus (105, 106) wurden auch beim Menschen mit serologischen Methoden B-zell-spezifische Antigene entdeckt (74), von denen man annimmt, daß sie in sehr enger Beziehung zu den HLA-D-Antigenen stehen und die daher als HLA-DRw-Antigene bezeichnet werden. Es handelt sich um einen serologischen Nachweis von MLC-Antigenen. Die Bezeichnung DRw bedeutet, daß die Antigene mit dem HLA-D Genort in Beziehung stehen (D-related) und daß die serologische Definition noch vorläufig ist (w = operationelle Workshop Definition).

Die an meisten verwendete Methode der B-Zell-Testung ist ein modifizierter Zytotoxizitätstest nach van Rood et al. (103). Eine neue B-Zell-Typisierungstechnik ist die Fluoreszenz-Doppel-Färbung, bei der B-Zellen mit FITC gebundenen Anti-Immunglobulin markiert werden und die Zytotoxizität durch ein Anfärben getöteter Zellen mit Ethidium-Bromid angezeigt wird. Dabei ist durch eine Filterkombination die Simultanbeobachtung von nicht getrennten T- und B-Zellen möglich.

Viele HLA-A und HLA-B-Antiseren enthalten Antikörper, die gegen B-Zell-spezifische Allo-Antigene gerichtet sind. Einiger dieser Antigene zeigten eine starke Assoziation mit HLA-D-Antigenen (9, 121). Auf der

anderen Seite gibt es immer mehr Beweise für die Existenz menschlicher B-zell-spezifischer Allo-Antigene, die unabhängig von HLA segregieren (72, 73). Es können also zwei loci, jeder mit mehreren Allelen, angenommen werden, wovon einer dieser loci entweder identisch ist oder zumindest in sehr enger Nachbarschaft zu HLA-D steht.

III. Aufgabenstellung

Nachdem schon früher bei der Zöliakie eine Frequenzerhöhung von HLA-B8 (8, 44, 45, 53) und eine erniedrigte Frequenz von HLA-B7 (8, 53) beschrieben wurde, untersuchte Keuning et al. (68), ob eine Korrelation zu HLA-D noch stärker ist. Er fand eine deutliche Assoziation zu DRw 3 und erst in zweiter Linie eine zu HLA-B8.

Unsere Motivation für die von uns durchgeführten Untersuchungen beruhte auf einer Überprüfung der von Keuning herausgefundenen Werte. Sie hatten das Ziel, diese Zusammenhänge in der süddeutschen Bevölkerung zu bestätigen bzw festzustellen, ob ähnliche Abweichungen wie bei früheren holländischen Untersuchungen des 1. und 2. locus bestünden (102). Es fand sich damals eine geringere Häufigkeit bei HLA-B8 (56 % in München gegenüber 83 % in Holland).

IV. Material und Methodik

Die Untersuchungen fanden statt an 42 nicht verwandten Patienten im Alter von 1 bis 15 Jahren, darunter 24 Mädchen und 18 Knaben. Die Diagnose Zöliakie wurde nach oben genannten Kriterien gestellt. Mit untersucht wurden ihre Eltern und insgesamt 48 klinisch gesunde Geschwister. Als Vergleichsgruppe dienten 1000 nicht verwandte, gesunde Deutsche aus dem Raum München für die T-Zell-Testung und 44 nicht verwandte Eltern von 22 gesunden Familien für die B-Zell-Testung.

Nach routinemäßiger Bestimmung des ABO-Systems und des rh-Faktors fand die Gewebetypisierung nach einem abgewandelten Mikrolymphozytotoxizitätstest (LCT) nach Terasaki und McClelland (97, 118) statt. Sie ist die von dem amerikanischen "National Institute of Health" (NIH) als Standardmethode für HLA-Typisierung anerkannte Technik. Im Prinzip werden dabei Lymphozyten, von Schwangeren gewonnene Antiseren und Komplement zusammengegeben. Die Antikörper reagieren dabei mit den an der Lymphozytenmembran inkorporierten Antigenen in Anwesenheit von Komplement. Die Farbstoffaufnahme der so geschädigten Zellen zeigt die Antigen-Antikörperreaktion an.

Antiseren können im Tierversuch durch Sensibilisierung eines Versuchstieres durch Organ- oder Hautübertragung eines zweiten Versuchstieres produziert werden. Auch eine Immunisierung durch Leukozyten oder Vollblut ist möglich. Beim Menschen werden Schwangerserum benutzt, die dadurch entstehen, daß im Serum der Mutter Antikörper gegen HLA-Antigene des Kindes produziert werden. Wegen der Multispezifität vieler dieser Seren ist eine strenge Auswahl erforderlich.

Die Spezifität von B-Zell-Seren wurde durch Kreuztestungen mit 22 Familien festgestellt, die beim 7. Internationalen Histo-Kompatibilitäts-Workshop 1977 (64) getestet wurden. Es wurden acht Seren für die Spezifität HLA-DRW3 und vier Seren für die Spezifität HLA-DRW7 verwendet. Die Gegenwart eines Antigens wurde angenommen, wenn 75 % der maßgeblichen Seren positiv reagierten und wenn das relevante Antigen ordnungsgemäß in der Familie des Patienten segregierte.

1. T-Zell-Präparation

Maximal 30 ml Venenblut, das mit 0,1 ml Heparin auf 10 ml Blut versetzt wird, wird im Verhältnis 1:2 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Es erfolgt ein Überschichten des so verdünnten

Blutes von je 6 ml auf 2 ml Ficoll-Isopaque-Lösung ($D = 1,077$). Nach zehnminütigem Zentrifugieren bei 2.500 Umdrehungen pro Minute wird vorsichtig der sich nun gebildete Lymphozytenring abgehoben und in ein graduiertes Spitzröhrchen gegeben. Die Lymphozyten werden anschließend zweimal mit Hank'scher Lösung bei 1500 Umdrehungen 10 Minuten lang gewaschen, unter dem Mikroskop gezählt und auf zweimal 10^6 /ml eingestellt. Nach Resuspension mit dem Gewebekulturmedium RPMI1640 kann die Suspension zur Typisierung benutzt werden.

Zur Testung werden Mikrotestplatten (Terasaki-Tray) verwendet, die mit 60 kegelförmigen Vertiefungen versehen sind. Darin findet die Reaktion von 1 μ l Antiserum mit 1 μ l Lymphozytensuspension unter 5 μ l Paraffinölabschluß statt. Die Inkubationszeit beträgt 30 Minuten bei Zimmertemperatur. Danach werden 5 μ l eines frisch gefrorenen und nicht absorbierten Kaninchenserums als Komplement zugefügt. Diese Mischung inkubiert weitere 60 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend erfolgt die Färbung mit 5 μ l Eosin (5 %-ige wässrige Lösung) und die Fixierung mit 5 μ l Formalin. Der Formaldehyd hat die Aufgabe, die Anfärbung der durch die Komplementreaktion geschädigten und somit positiven Zellen zu stoppen.

Auf diese Weise ist die Reaktion noch länger ablesbar. Jetzt kann die Platte mit dem Objektträger abgedeckt werden. Die Ablesung wird im umgekehrten Phasenkontrastmikroskopdurchgeführt, wobei der Prozentsatz der lysierten, durch Eosin dunkel gefärbten Zellen geschätzt wird. Eine Zytolyse bedeutet, daß eine Antigen-Antikörperreaktion stattgefunden hat.

+	= 10 bis 20 % lysierte Zellen
++	= 20 bis 50 % lysierte Zellen
+++	= 50 bis 70 % lysierte Zellen
++++	= 75 bis 100 % lysierte Zellen

2. B-Zell-Präparation (nach van Rood 1975)(103)

Die erste Phase der B-Zell-Präparation entspricht den oben beschriebenen Vorbereitungen für die T-Zell-Testung.

Mit zweimaligem Waschen je 7 Minuten lang bei 2000 Umdrehungen mit physiologischer Kochsalzlösung beginnt die Herstellung der SRBC (sheep-red-blood-cells). Die dann auf 2 % eingestellte Lösung wird erneut unter Beigabe von Neuraminidase (20 µl N pro 1 ml SRBC) mit RPMI resuspendiert. Auf einem Rotor läßt man die Röhrchen 15 Minuten lang langsam

mischen. Ein erneutes zweimaliges Waschen wie vorher mit NaCl mit anschließendem Resuspendieren mit RPMI bildet den Abschluß der zweiten Phase.

Den nächsten Abschnitt nennt man Rosettieren. Diese Anreicherungsmethode basiert auf der Eigenschaft von T-Lymphozyten, mit Hammelerythrozyten Rosetten zu bilden. Es werden gleiche Mengen Lymphozyten und 20 %ige NSRBC (mit Neuraminidase versetzte Hammelerythrozyten) zusammengegeben und 10 Minuten lang bei 1500 Umdrehungen zentrifugiert. Nach Absaugen von zwei Drittel Überstand wird die gleiche Menge McCoy's Medium hinzugefügt und in der Hand langsam und vorsichtig resuspendiert. Von nun an entspricht die weitere Präparation der der T-Zell-Testung: Nach dem Überschichten auf Ficoll wird zentrifugiert, der B-Zell-Ring abgenommen, zweimal gewaschen, mit (abweichend von oben) RPMI gezählt und auf zweimal 10^6 /ml = 2000/ul eingestellt. Falls die Testung am nächsten Tag stattfinden soll, können die Zellen in McCoy's Medium aufbewahrt werden.

V. Ergebnisse

1. Statistische Anmerkungen

a) chi²-Wert

Um die Signifikanz von Ergebnissen zu untersuchen, so zum Beispiel den Vergleich der Häufigkeit bestimmter HLA-Antigene in verschiedenen Populationen, wird im Wege des chi²-Tests ein bestimmter Wert ermittelt. Dazu wird zur Durchführung des Vergleichs eine Vier-Felder-Tafel erstellt, die am Beispiel des HLA-B8 sich wie folgt darstellen läßt:

	Kontroll- population	Patient	Summe
mit HLA-B8	A	B	A+B
ohne HLA-B8	C	D	C+D
Summe	A+C	B+D	N=A+B+C+D

Die Formel für chi² läßt sich deshalb wie folgt darstellen:

$$\text{chi}^2 = \frac{(\frac{AD-BC}{N})^2 \times N}{(A+C) \times (B+D) \times (A+B) \times (C+D)}$$

In Fällen, in denen nicht zwei Populationen, sondern das Auftreten eines Merkmals in einer Population mit einem erwarteten Wert verglichen wird, wie zum Beispiel in der Segregationsanalyse, kommt folgende Formel zur Anwendung:

$$\chi^2 = \frac{(\text{erwarteter Wert} - \text{beobachteter Wert})^2}{\text{erwarteter Wert}}$$

b) p-Wert

Der p-Wert (p = probability) gibt die Irrtumswahrscheinlichkeit an, d.h. die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmter Wert ganz zufällig erreicht werden könnte. Um statistisch abgesicherte Ergebnisse zu erzielen, sollte p unter 0,01 liegen. Der p-Wert kann mit Hilfe des χ^2 -Wertes unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade in einer Tabelle nachgelesen werden. Die Zahl der Freiheitsgrade in einer Vier-Felder-Tafel beträgt:

$$\begin{aligned} &(\text{Spaltenzahl} - 1) \times (\text{Zeilenzahl} - 1) = \\ &(2 - 1) \times (2 - 1) = 1 \end{aligned}$$

Da bei diesen Studien eine hohe Zahl von Parametern getestet wird, besteht die Gefahr einer Überschätzung der statistischen Signifikanz. Es

ist deshalb allgemein akzeptiert, daß die aus den χ^2 -Werten resultierenden p-Werte mit der Anzahl der getesteten Parameter multipliziert werden (p-Wert-Korrektur) (36, 33).

c) Relatives Risiko

Mit dem relativen Risiko hat man einen Wert, der den Grad einer Beziehung zwischen einem Antigen und einer Krankheit ausdrückt. Das relative Risiko wurde 1955 von Woolf (126) bestimmt und zeigt einfach an, wievielmals häufiger die Krankheit bei Individuen auftritt, die ein bestimmtes Antigen tragen, gegenüber denjenigen, die es nicht besitzen.

Die mathematische Formel für das relative Risiko lautet

$$x = \frac{a \times d}{b \times c},$$

wobei

- a = Anzahl der Patienten mit dem Antigen
- b = Anzahl der Patienten ohne Antigen
- c = Anzahl einer Kontrollgruppe mit dem Antigen
- d = Anzahl einer Kontrollgruppe ohne Antigen.

Auf andere Weise können auch die Häufigkeitsan-

gaben von Antigenen bei Patienten h_p und Kontrollpersonen h_c herangezogen werden. Dann heißt es:

$$\text{relatives Risiko} = \frac{h_p (1-h_c)}{h_c (1-h_p)}.$$

2. Phänotypfrequenzen

Tabelle I zeigt die Phänotypfrequenzen von 42 Patienten, 84 Eltern und 48 Geschwistern sowie Vergleichswerte von 1000 Eltern einer weißen Population. Beim ersten locus ist nur die Erhöhung von HLA-A1 sowohl bei den Patienten als auch ihren Familienangehörigen auffällig:

Patienten: 643 $^0/00$ gegenüber 272 $^0/00$ beider Kontrollpopulation ; $\chi^2 = 25,31$; p korrigiert (p_{corr}) = 0,00017.

Eltern: 440 $^0/00$ gegenüber 272 $^0/00$; $\chi^2 = 9,98$;
 $p_{\text{corr}} = 0,036$

Geschwister: 583 $^0/00$ gegenüber 272 $^0/00$;
 $\chi^2 = 20,23$; $p_{\text{corr}} = 0,00024$.

Beim zweiten locus fanden wir für zwei Spezifitäten

eine Erhöhung HLA-B8 bei den Patienten 643 ‰ gegenüber 185 ‰ bei der Kontrollpopulation ($\chi^2 = 49,35$; $p_{\text{corr}} = 0,0001$; Eltern: 381 ‰ , $\chi^2 = 17,37$; $p_{\text{corr}} = 0,001$; Geschwister 437 ‰ , $\chi^2 = 16,92$; $p_{\text{corr}} = 0,001$) und HLA-B13 (Patienten: 262 ‰ gegenüber 40 ‰ , $\chi^2 = 38,0$; $p_{\text{corr}} = 0,0001$; Eltern: 179 ‰ , $\chi^2 = 28,08$; $p_{\text{corr}} = 0,0001$; Geschwister: 229 ‰ , $\chi^2 = 31,43$; $p_{\text{corr}} = 0,0001$).

Im Vergleich zu anderen Studien (53) konnte keine signifikante Erniedrigung von HLA-B7 festgestellt werden.

3. Haplotypfrequenzen

Die Antigene des HLA-Systems werden in Form des Haplotyps vererbt. Jeweils ein Antigen der ersten Serie ist mit einem Antigen der zweiten Serie gekoppelt. Die Haplotypen werden durch Familienanalysen ermittelt.

Beispiel:

Vater

1. Locus: HLA-A2, HLA-AW26

2. Locus: HLA-B8, HLA-B7

Mutter:

1. Locus: HLA-A2, HLA-AW 30
2. Locus: HLA-B27, HLA-B13

1. Kind:

1. Locus: HLA-A2, HLA-A2
2. Locus: HLA-B8, HLA-B27

2. Kind:

1. Locus: HLA-A2, HLA-AW30
2. Locus: HLA-B8, HLA-B13

Hieraus können die Haplotypen bestimmt werden:

Vater: HLA-A2, B8
 HLA-AW26, B7

Mutter: HLA-A2, B27
 HLA-AW30, B13

1. Kind: HLA-A2, B8
 HLA-A2, B27

2. Kind: HLA-A2, B8
 HLA-AW30, B13

In Tabelle II sind die ausgezählten Haplotypen der Patienten als Zahl pro Tausend angegeben. In der Vertikalen wurden die Werte des 2. locus eingetragen, in der Horizontalen die Werte des 1. locus. Die Randsummen in der rechten und der unteren Spalte

der Tabelle sind die jeweiligen Genfrequenzen. In der Blank-Spalte sind die bisher noch nicht identifizierten Antigene aufgeführt. Konnten zum Beispiel bei der Testung nur drei Antigene festgestellt werden, (1. locus: HLA-A1; 2. locus: HLA-B8, BW15), so ergaben sich daraus zwei Möglichkeiten: Entweder handelte es sich bei dem 4. Antigen um ein noch unbekanntes Antigen oder es bestand Homozygotie.

Die Haplotypen von einzelnen Kopplungsgruppen, bei denen sich Abweichungen in der Phänotypfrequenz zeigen, werden mit den Werten der Kontrollgruppe verglichen:

Es zeigt sich eine signifikante Häufigkeit von HLA-A1, B8 (250/1000 gegenüber 69/1000 bei der Kontrollgruppe). Ebenso konnten wir eine Erhöhung der Kopplungsgruppen mit HLA-B13 feststellen:

HLA-A2, B13 (36/1000 gegenüber 5/1000)

HLA-A28, B13 (12/1000 gegenüber 1/1000)

HLA-AW 30/31, B13 (48/1000 gegenüber 8/1000).

Für HLA-AW24, B13 (12/1000) fanden sich ebenso wie für HLA-AW33, B13 (12/1000) keine Vergleichswerte.

4. Segregationsanalyse der HLA-Antigene

Um Aussagen über die Assoziation einer Krankheit mit dem HLA-System machen zu können, werden Segregationsanalysen durchgeführt. Dies ist möglich durch die Auswahl der Familien, in denen ein Elternteil heterozygoter Erbträger eines Gens ist, während der andere Elternteil dieses Gen nicht besitzt: (+ - / - -) (7, 24). Nach dem Mendel'schen Gesetz kann erwartet werden, daß das Gen zu 50 % an die Kinder vererbt wird. Die größere Häufigkeit bzw. Seltenheit bestimmter Gene bei Patienten deutet deshalb auf eine Beziehung zwischen der Krankheit und dem Gen hin.

In Tabelle III sind die Ergebnisse der Segregationsanalyse der Zöliakiepatienten und ihren gesunden Geschwistern aufgeführt. Bei erkrankten Kindern waren die Antigene HLA-A1 (27 positiv, 3 negativ; $\chi^2 = 19,2$, $P_{\text{corr}} = 0,0031$) und HLA-B8 (27 positiv, 2 negativ, $\chi^2 = 21,55$, $P_{\text{corr}} = 0,0003$) signifikant erhöht. Die Werte für HLA-B13 (11 positiv, 2 negativ, $\chi^2 = 6,2$) zeigten eine Abweichung, lagen aber nicht im Bereich statistischer Erheblichkeit.

Die Werte für die Geschwister bleiben erwartungsgemäß im Verhältnis 50 : 50. Nur die Segregation der Gene des 2. locus HLA-B5 (14 positiv, 4 negativ; $\chi^2 = 5,6$) und HLA-B27 (11 positiv, 1 negativ; $\chi^2 = 8,3$) waren geringfügig (nicht signifikant) verschoben.

5. Segregationsanalyse der Haplotypen

Bei der Segregationsanalyse der Haplotypen war nur der Haplotyp HLA-A1, B8 wesentlich erhöht (20 positiv, 2 negativ; $\chi^2 = 14,72$; $p_{\text{corr}} = 0,0024$).

Die Segregationsanalyse der Haplotypen der gesunden Geschwister war unauffällig, da die leichte Erhöhung von HLA-A1, B8 keine statistische Signifikanz erreichte.

6. B-Zell-Allo-Antigene

Das mit dem HLA-B8 assoziierte Antigen HLA-DRW3 wurde bei 27 von 42 Patienten (= 64%) im Vergleich zu 20 % bei einer Kontrollgruppe ($\chi^2 = 15,21$; $p = 0,0005$) gefunden. Das Antigen HLA-DRW7 ist bei der gesunden Population nur schwach mit HLA-B13 verbunden. Es wurde bei 20 von 42 Patienten (48 %) im

Gegensatz zu der Häufigkeit von 25 % bei der Kontrollgruppe ($\chi^2 = 3,84$, $p \leq 0,05$) vorgefunden und erreicht damit knapp die Grenze statistischer Signifikanz. Die Untersuchung von DRW3 und 7 zeigt, daß 36 der 42 Patienten entweder DRW3 oder 7 oder beide besitzen, wobei die Kombination DRW3/7 ziemlich häufig ist ($11/42$, $\chi^2 = 6,25$; $p \leq 0,05$). Zusammengefaßt weisen die Antigene DRW3 und 7 60% der Genfrequenz des DRW-locus bei den Patienten auf, im Vergleich dazu nur 27% in der Kontrollpopulation ($\chi^2 = 16,9$, $p \leq 0,0005$).

VI. Besprechung

Wie schon in vorausgegangenen Studien (8, 16, 53, 68), so konnte auch diesmal eine Frequenzerhöhung von HLA-B8 (64 % bei den Patienten gegenüber 18 % bei einer Kontrollgruppe) und HLA-B13 (26 % gegenüber 4 %) festgestellt werden. Die Vermehrung von HLA-B13 ist jedoch bis jetzt nur in der Süddeutschen Bevölkerung gefunden worden (2). Irische Studien konnten derartige Ergebnisse nicht bestätigen (88). Dies ist durch die Tatsache erklärbar, daß auch Unterschiede bei den Haplotypfrequenzen in den Normal-Populationen bestehen. Darüber hinaus kann dieser relativ geringe Grad der Erhöhung nur bei einer größeren Anzahl von Patienten festgestellt werden. Die Frequenzverminderung von HLA-B7 (12 % gegenüber 24,5 %) konnte erwartungsgemäß bestätigt werden, obwohl sie im Vergleich zu früheren Studien diesmal nicht so ausgeprägt war (Harms: 6 % gegenüber 30 %) (53). Dies kann mit der kleineren Patientenzahl in Zusammenhang gebracht werden. Auf alle Fälle geht auch diesmal die HLA-B7 Frequenzverringering über das Maß einer kompensatorischen Verminderung bei gleichzeitiger Erhöhung anderer Antigene hinaus. Man kann deshalb annehmen, daß HLA-B7 mit einem anderen Gen assoziiert ist,

das eine gewisse Schutzfunktion ausübt, ein Phänomen, das auch beim juvenilen Diabetes mellitus beobachtet wurde.

Mit Untersuchungen über die Beziehungen von HLA mit Zöliakie wird versucht, das Gen zu identifizieren, welches für die Krankheitsempfänglichkeit verantwortlich ist. Durch vorausgegangene Studien wurde offensichtlich, daß das Antigen HLA-B8 sicher nicht selber in die Pathogenese eingreift. Man fand ein Allel - DRW3-, das eng mit HLA-B8 verbunden ist. In der vorliegenden Arbeit konnte eine Erhöhung von DRW3 bestätigt werden. Mit 64 % gegenüber 20 % bei einer Kontrollpopulation ($p=0,0005$, relatives Risiko 7,2) ist sie jedoch nicht so hoch wie bei den Studien von Keuning (68) (27 Patienten von 28, Kontrollgruppe 27 von 100 Personen positiv), so daß dessen Vermutung, dieses Antigen könnte direkt mit der Pathogenese von Zöliakie verbunden sein, in Frage gestellt wurde. Mit der Phänotypfrequenz von 64 % sowohl bei HLA-B8 als auch bei HLA-DRW3 wurde keine stärkere Assoziation gefunden. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß der Mangel an Signifikanz an der kleineren Fallzahl liegen kann. Parallel zu früheren Beobachtungen zeigen die Ergebnisse also eine geringere Frequenzerhöhung bei HLA-B8 und bei HLA-DRW3 gegenüber hollän-

dischen (68) und norwegischen Studien (112). Der abweichende Assoziationsgrad in verschiedenen Populationen wird verständlich durch die Tatsache, daß die Beziehung ein Resultat des Kopplungsungleichgewichts zwischen Allelen zweier eng gekoppelter loci ist. Das Kopplungsungleichgewicht kann dabei in verschiedenen Populationen stark variieren. Unsere Daten unterstützen also die Vorstellung eng verbundener Gene und zeigen zugleich, daß HLA-DRW3 nicht das Antigen ist, das direkt mit der Pathogenese von Zöliakie verbunden ist. Dies wurde von Betuel (25) bestätigt, der ebenfalls von einer Frequenz von etwa 63 % bei französischen Patienten von DRW3 berichtet hat.

Das wichtigste Ergebnis dieser Arbeit ist das Auffinden eines zweiten mit der Zöliakie assoziierten HLA-DRW-Antigens: HLA-DRW 7 (48 % bei Zöliakie-Patienten, 25 % bei der Kontrollgruppe, $p = 0,05$, relatives Risiko = 2,7). Das wurde inzwischen ebenfalls von Betuel (25) (-DRW7 54 %) und Svjegaard (persönliche Mitteilung) bestätigt. Das B-Zell-Antigen HLA-DRW7 zeigt in der Normalpopulation eine leichte Assoziation mit HLA-B13. Bei den 42 Patienten ist diese Assoziation sogar stärker. Hier tragen alle HLA-B13 positiven Haplotypen auch HLA-DRW7. Außerdem wurde HLA-DRW7 häufig bei HLA-B12 positiven Haplotypen gefunden. Es ist deshalb möglich, daß HLA-DRW7 identisch mit der LD 12 a Spezifität ist,

die vermehrt bei Patienten mit Dermatitis herpetiformis gefunden wurde (119).

Das Auftreten einer relativ hohen Zahl von HLA-DRW3/HLA-DRW7 Heterozygoten (26 % bei den Patienten gegenüber 5 % bei der Kontrollgruppe, $p=0,05$, relatives Risiko = 6,7) läßt eine Wechselbeziehung zwischen zwei verschiedenen HLA-assoziierten Genen möglich erscheinen. Es taucht die Frage auf, ob alle mit Zöliakie gekoppelten Antigene selber mit dem gleich Krankheitsempfänglichkeitsgen assoziiert sind. Wenn dies der Fall ist, müßte man eine rezessive Wirkung des Empfänglichkeitsgens annehmen. Da aber nur 7 von 42 homozygot sind, kann man alternativ zwei oder mehr assoziierte HLA-Antigene in Betracht ziehen, die bei der Bestimmung der Krankheitsempfänglichkeit eine Rolle spielen.

Mit der Segregationsanalyse der HLA-Antigene in Familien ist eine andere Methode zur Bestätigung der Assoziation zu einer Krankheit gegeben. Durch ihre Unabhängigkeit von einer verwandten Kontrollpopulation - die Kontrolle liegt hier innerhalb der Familie - ist sie biologisch relevanter, da sich zum Beispiel hier auch die bei der Pathogenese von Krankheiten entscheidend mitwirkende Umwelt sehr ähnlich ist. Auch

im Vergleich mit den gesunden Geschwistern wird das oben Gesagte deutlich: Bei den Kindern mit Zöliakie konnte eine deutliche Erhöhung der Antigene HLA-A1 (27:3, $\chi^2 = 9,3$, $p = 0,0031$), HLA-B8 (27:2, $\chi^2 = 21,55$, $p = 0,0003$), eine geringere bei HLA-B13 (11:2) festgestellt werden, deren χ^2 -Wert mit 6,23 am Rande der Signifikanz liegt. Die Abweichung für HLA-B7 ist zwar in der erwarteten Richtung, aber mit dem χ^2 -Wert von 1,66 nicht signifikant. Das Antigen HLA-A1 verdankt dabei seine Frequenzerhöhung nur seiner engen Assoziation zu HLA-B8.

Auch die B-Zell-Allo-Antigene HLA-DRW3 (30:1, $\chi^2 = 27,12$, $p = 0,0005$) und HLA-DRW7 (20:0, $\chi^2 = 20,0$, $p = 0,0005$) zeigen eine signifikante Abweichung von der erwarteten Verteilung (50:50).

Die Verteilung bei den gesunden Geschwistern dagegen ist unauffällig. Die hier beobachteten Abweichungen sind nach Korrektur des p-Wertes nach der Anzahl der verwendeten Parameter nicht signifikant und dürfen als zufällig angesehen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen auf, daß die Bestimmung der Antigene HLA-B8, HLA-DRW3 und -DRW7, bzw. das verminderte Auffinden von HLA-B7 sicher noch keine diagnostische Bedeutung besitzen. Darauf deutet auch

die Existenz weiterer Krankheiten, bei denen wie bei der Zöliakie Störungen des Immunsystems vermutet werden und die gleichen Antigene des Histo-Kompatibilitätssystems auftreten. So sind bei folgenden Krankheiten die Phänotypfrequenzen von HLA-B8 und HLA-DRW3 erhöht (11):

Diabetes mellitus juvenilis
Myasthenia gravis
Thyreotoxikose
Morbus Addison

Bei Dermatitis herpetiformis Duhring (119), wo HLA-B8 und HLA-DRW3 ebenfalls vermehrt ist, ist das verständlich, da bei dieser Krankheit eine der Zöliakie ähnliche Pathogenese (Glutenempfindlichkeit) vorliegt.

Ein gemeinsames Auftreten von Zöliakie und Diabetes ist häufiger als man aus den Einzelfrequenzen erwarten würde. Beiden Krankheiten liegt die Theorie eines defekten Immunantwortgens zugrunde, das mit HLA-B8, -DRW3 assoziiert ist.

Das neu hinzu gekommene B-Zell-Allo-Antigen HLA-DRW7 macht die Interpretation schwierig. Es könnte bedeuten, daß zwei Gene einen additiven Effekt ausüben. Unter Berücksichtigung der Genfrequenz treten aller-

dings nicht viel mehr Heterozygote HLA-DRW3/7 auf als erwartet (11 gefundene gegenüber 9,8 erwarteten).

Unter Verwandten ersten Grades kommt es zur Manifestation der Krankheit Zöliakie in der Frequenz von 1 auf 11, die damit wesentlich höher liegt als in der unverwandten Bevölkerung (1:1000 bis 2000) (81, 89). Der Zöliakie liegt also ein kodominanter Vererbungsmodus, mit allerdings geringer, Penetranz zugrunde.

Die HLA-DRW-Antigene sind sicherlich an der Immunregulation beteiligt und damit für die Empfänglichkeit der Zöliakie verantwortlich. Allerdings ist es unwahrscheinlich, daß sie direkt mit der Pathogenese verbunden sind. Damit es zu Entgleisungen im immunologischen System kommt, sind noch andere Einflüsse notwendig. Es ist dabei in erster Linie an Umweltfaktoren zu denken. Eine gute Forschungsgrundlage bietet hier die Untersuchung von eineiigen Zwillingen, die dieselbe genetische Disposition besitzen, wobei aber nur ein Kind erkranken kann (32, 58, 124). Solche Umgebungsfaktoren könnten zum Beispiel Viruserkrankungen sein. Auch mit der Mädchenwendigkeit (32, 111) der Erkrankung (24 Mädchen, 18 Knaben) ist ein weiterer HLA-unabhängiger genetischer Einfluß bekannt. Es wird in

Zukunft eine Aufgabe sein, diese Umweltfaktoren genauer zu untersuchen und eine Erklärung zu finden, auf welche Weise die den HLA-A, B und mehr noch HLA-D loci benachbarten sogenannten Zöliakie-Gene in die Pathogenese der Krankheit eingreifen.

VII. Zusammenfassung

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, zu untersuchen, ob bei Zöliakie die Korrelation zum B-Zell-spezifischen Antigen HLA-DRW3 und HLA-DRW7 stärker ist als zu HLA-B8 des B-locus.

Es wurden 42 Patienten, 84 Eltern und 48 klinisch gesunde Geschwister untersucht und auf ihre HLA-A, B- und DRW-Spezifitäten geprüft. Die Gewebetypisierung zur Bestimmung der HLA-A, B-Antigene fand nach einem abgewandelten Mikrolymphozytotoxizitätstest nach Terasaki und McClelland statt. Bei der B-Zell-Testung gingen wir nach dem Testverfahren von van Rood vor. Die Ergebnisse der HLA-A, B-Untersuchung wurden 1000, der HLA-DRW-Untersuchung 44 Kontrollpersonen gegenübergestellt. Die Diagnose Zöliakie wurde nach dem Biopsiefund einer subtotalen Zottenabflachung unter Glutenbelastung gestellt.

Die Erhöhung der Phänotypfrequenzen von HLA-A1, B8 und B13 konnte sowohl bei den Patienten als auch bei den Eltern und Geschwistern im Vergleich zu früheren Untersuchungen bestätigt werden. Dagegen konnte keine signifikante Frequenzerniedrigung von HLA-B7 festgestellt werden.

Bei den Haplotypfrequenzen konnte eine signifikante Häufung von HLA-A1, B8 (250/1000 gegenüber 69/1000 bei der Kontrollgruppe) und eine Erhöhung der Kopplungsgruppen mit HLA-B13 festgestellt werden.

Das mit dem HLA-B8 assoziierten Antigen HLA-DRW3 wurde bei 64 % der 42 Patienten gefunden ($\chi^2 = 15,21$; $p = 0,005$, 20 % bei einer Kontrollgruppe). Dieses Ergebnis weicht damit von einer vergleichbaren Studie in Holland ab und beweist, daß bei gleicher Krankheit die Assoziation in verschiedenen Populationen verschieden sein kann. Das deutet darauf hin, daß das Antigen HLA-DRW3 nicht selbst an der Pathogenese beteiligt ist, aber als eng gekoppeltes Genprodukt des eigentlichen Antigens als genetischer Marker benutzt werden kann.

Erstmalig in dieser Studie wurde ein zweites mit der Zöliakie verbundenes HLA-DRW-Antigen aufgefunden: das schwach mit HLA-B13 assoziierte HLA-DRW7 (48 % bei den Patienten, $\chi^2 = 3,84$; $p \leq 0,05$, 25 % bei der Kontrollgruppe). Diese Beobachtung wurde inzwischen in

Frankreich bestätigt.

Die relativ hohe Zahl von HLA-DRW3=HLA-DRW7 Heterozygoten (26 % bei den Patienten, 5 % bei einer Kontrollgruppe, $p = 0,05$, relatives Risiko = 6,7) unterstreicht die Vermutung, daß zwei oder mehr assoziierte HLA-Antigene in Betracht gezogen werden können, die für die Krankheitsempfänglichkeit eine Rolle spielen.

Mit den Segregationsanalysen, wo für die Patienten wie für die gesunden Geschwister das gleich große Risiko bestand, das besondere HLA-Merkmal zu erben, ließ sich aufzeigen, daß HLA-B8, HLA-B13, der Haplo-
typ HLA-A1, B8 und die B-Zell-Allo-Antigene HLA-DRW3, HLA-DRW7 unter den Patienten signifikant überrepräsentiert waren.

Der Wert der gewonnenen Erkenntnisse liegt sicherlich darin, daß auch die Bestimmung der HLA-DRW-Antigene primär keine diagnostische Bedeutung besitzt. Damit es bei gegebener genetischer Prädisposition zu Entgleisungen im immunologischen System kommt, sind noch andere Einflüsse wie z.B. der Faktor der Mädchenwindigkeit oder Umweltfaktoren notwendig. Dies beweist die Beobachtung eineiiger, für die Zöliakie diskordanter Zwillinge.

TABELLE I

Phänotypfrequenzen in 42 getesteten Familien im Vergleich zu einer Kontrollpopulation:

A - Locus	Zöliakie-Patienten		Eltern		Geschwister		Kontrollpopulation	
	N = 42		N = 84		N = 48		N = 1000	
	n*)	Ph. %	chi ²	n	Ph. %	chi ²	n	Ph. %
HLA-A1	27	643	25,31 ^a	37	440	9,98 ^b	28	583
HLA-A2	18	428	0,02	30	357	-	18	375
HLA-A3	5	119	2,39	14	167	-	8	166
HLA-A9	7	167	0,06	16	191	-	10	208
HLA-A10	0	-	-	0	-	-	0	-
HLA-A11	2	48	-	10	119	-	7	146
HLA-A28	4	95	-	5	59	-	6	125
HLA-AW29	2	48	-	4	48	-	1	21
HLA-AW30/31	5	119	-	6	71	-	5	104
HLA-AW 32	2	48	-	4	48	-	5	104
Blank								
								49

*) n = Anzahl der positiven Individuen

p korrigiert für die Anzahl der getesteten Antigene: a = 0,00017

b = 0,036

c = 0,00024

TABELLE I

Phänotypfrequenzen in 42 getesteten Familien im Vergleich zu einer Kontrollpopulation:

Zöliakie-Patienten				Eltern				Geschwister				Kontrollpopulation			
N = 42				N = 84				N = 48				N = 1000			
B-Locus	n*)	Ph. %	chi ²	n	Ph. %	chi ²	n	Ph. %	chi ²	Ph. %					
HLA-B5	4	95	-	10	119	-	14	292	-	113					
HLA-B7	5	119	2,84	15	178	2,25	6	125	2,99	245					
HLA-B8	27	643*	49,35 ^{d)}	32	381	17,37 ^{f)}	21	437	16,92 ^{h)}	185					
HLA-B12	14	333	-	24	286	-	14	292	-	270					
HLA-B13	11	262**	38,0 ^{e)}	15	179	28,08 ^{g)}	11	229	31,43 ⁱ⁾	40					
HLA-B14	1	23	-	9	107	-	3	63	-	86					
HLA-B15	3	71	-	8	95	-	2	42	-	117					
HLA-BW16	1	23	-	3	36	-	1	21	-	10					
HLA-B17	2	48	-	5	60	-	0	-	-	94					
HLA-B18	2	71	-	3	36	-	1	21	-	90					
HLA-BW21	3	43	-	4	48	-	2	42	-	38					
HLA-BW22	2	119	-	5	60	-	1	21	-	40					
HLA-B27	5	-	-	7	83	-	11	229	-	94					
Blank II										163					

- = nicht signifikant

n = Anzahl der positiven Individuen

*) relatives Risiko 7,9

**) relatives Risiko 8,5

d) p 0,0001

e) p 0,0001

f) p 0,001

g) p 0,0001

h) p 0,001

i) p 0,0001

TABELLE II

Ausgezählte Haplotypen als Zahl pro tausend von 42 Patienten mit Zöliakie:

HLA-A															
LA-B	1	2	3	9	11	28	29	W23	W24	25	26	W30/31	W32	W33	Bl. Su
5	12	12			12						12				48
7		12	12	12	12										12 60
8	250	24	12	24											12 322
12		48	12	24		12	24	12					24		12 168
13		36				12			12			48		12	120
14			12												12
18		24													24
27	24					12						12			48
15	24		12												36
W16	12														12
W17		12							12						24
W21		36													36
W22						12					12				24
W35			24												24
W37															0
W38		12									12				24
W39															0
W40											12				12
B															0
Su	322	216	84	60	0	24	48	24	12	24	0	48	60	24	12 36 1000

TABELLE II A

HLA-Hyplotypfrequenzen einer weißen Population (N = 1000),
angegeben als Anzahl pro 1000

HLA-A

HLA-B	1	2	3	9	10	11	28	29	W31	W32	blank	Summe
5	6	18	4	5	3	8	4	0	5	4	1	58
7	6	38	52	13	4	6	3	2	1	4	2	131
8	69	10	5	3	2	3	1	0	1	2	1	97
12	3	66	7	18	8	1	5	19	2	10	3	142
13	1	5	1	1	1	0	1	1	8	0	1	20
14	4	8	4	5	2	1	6	1	0	7	6	44
18	3	16	5	2	10	3	0	1	2	2	2	46
27	4	18	2	5	5	6	1	0	2	4	1	48
W15	3	31	9	5	2	2	1	0	4	2	1	60
W16	1	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	5
W17	19	12	2	1	2	2	1	3	2	3	1	48
W21	1	6	2	4	1	0	3	1	0	1	0	19
W22	1	2	1	3	2	6	1	1	1	2	0	20
W35	10	14	20	19	4	17	4	0	5	5	2	100
W40	7	30	5	8	3	4	3	0	10	5	2	77
blank	9	23	6	10	15	1	6	2	5	6	2	85
Summe	147	299	125	102	65	60	40	31	49	57	25	1000

Segregationsanalyse der HLA-Antigene in Familien mit
42 zöliakiekranken Kindern:

Antigen	Anzahl der Patienten			Anzahl der Geschwister		
	positiv	negativ	chi ²	positiv	negativ	chi ²
<u>A - Locus</u>						
HLA-A1	27	3	19,2*)	28	14	4,6
HLA-A2	18	6	6	18	9	3,0
HLA-A3	5	7	0,33	8	3	2,2
HLA-A9	7	6	-	10	6	1
HLA-A11	2	8	3,6	7	7	-
HLA-A28	4	1	0,12	6	1	3,6
HLA-A29	2	2	-	1	0	-
HLA-AW23	1	1	-	1	1	-
HLA-AW24	2	2	-	0	2	-
HLA-A26	4	3	-	2	2	-
HLA-AW30/31	5	0	5	5	2	-
HLA-AW32	2	2	-	5	2	-
HLA-AW33	1	5	2,6	2	3	-

B - Locus

HLA-B5	4	4	-	14	4	5,6
HLA-B7	5	10	1,66	6	6	-
HLA-B8	27	2	21,55**)	21	11	3,1
HLA-B12	14	8	1,64	14	9	1,1
HLA-B13	11	2	6,23	11	6	1,4
HLA-B14	1	7	4,5	3	5	-
HLA-B18	2	1	-	1	2	-
HLA-B27	5	4	-	11	1	8,3
HLA-B15	3	5	-	2	4	-
HLA-BW16	1	3	-	1	1	-
HLA-B17	2	2	-	0	2	-
HLA-BW21	3	1	-	2	2	-

*) p korrigiert für die Anzahl der getesteten Antigene = 0,0031

**) p = 0,0003

Antigen	Anzahl der Patienten			Anzahl der Geschwister		
	positiv	negativ	chi ²	positiv	negativ	chi ²
HLA-BW22	2	3	-	1	2	-
HLA-BW35	2	8	-	4	5	-
HLA-BW38	2	1	-	0	3	-
HLA-B40	1	1	-	2	0	-
HLA-B37	0	2	-	2	2	-
HLA-BW39	0	1	-	1	0	-

D-Locus

HLA-DRW3	30	1	27,12***	22	14	1,77
HLA-DRW7	20	0	20,0****	15	10	1,0

***) P_{corr} 0,0005

****) P_{corr} 0,0005

TABELLE IV

Segregationsanalyse von HLA-Haplotypen

	Patienten			Geschwister		
	positiv	negativ	chi ²	positiv	negativ	chi ²
HLA-A1, B8	20	2	chi ² =14,72 *)	17	14	chi ² =2,9
HLA,A1, B12	3	2	n.s.**)	3	3	n.s.
HLA-A2, B5	1	0	n.s.	1	0	n.s.
HLA-A2, B8	2	1	n.s.	2	0	n.s.
HLA-A3, B7	1	2	n.s.	1	1	n.s.
HLA-A3, BW35	0	2	n.s.	2	0	n.s.
HLA,A3, B8	1	0	n.s.	0	0	n.s.

*) p = 0,0024

**) n.s. = nicht signifikant

TABELLE V

Vergleich der Phänotypfrequenzen von Zöliakiepatienten
mit einer Kontrollpopulation

Antigen	Zöliakie-Patienten (n = 42)		Kontrollgruppe (n = 44)		Relatives Risiko
	positiv	%	%	p-Wert	
DRW3	27	64	20	0,0005	7,0
DRW7	20	48	25	0,05	2,7
DRW3/7	11	26	5	0,05	7,45

Literaturverzeichnis

1. Aho, K.; Ahvonen, P.; Lassus, A.; Sievers, K.; Tiilikainen, A.:
HL-A antigen 27 and reactive arthritis
Lancet II, 157 (1973).
2. Albert, E.D.; Mickey, M.R.; Mc Nicholas, A.C.; Terasaki, P.I.:
Seven new HL-A specificities and their distribution in three races.
Histocompatibility Testing Munksgaard,
Copenhagen, 221-230, (1970).
3. Albert, E.D.:
Die Bedeutung des HLA-A-Systems in Klinik und Forschung.
S. Karger, Basel (1972).
4. Albert, E.D.:
Die Immunogenetik des Systems der menschlichen Leukozyten-Iso-Antigene.
Habilitationsschrift, S. 16-19, (1972).
5. Albert, E.D.:
Neue Antigene des HLA-A-Systems in Klinik und Forschung.
Klin. Wochenschrift, 51. Jg., Heft 15, S. 778 (1973).
6. Albert, E.D.; Mickey, M.R.; Ting, A.; Terasaki, P.I.:
Deduction of 2140 HL-A haplotypes and segregation analysis in 535 families.
Transplant.Proc. 5, No. 1, 215 (1973).
7. Albert E.D.; Mempel, W.; Grosse-Wilde, H.:
Linkage disequilibrium between HL-A7 and the MLC Specificity Pi.
Transplant. Proc. 5, No. 4, 1551, (1973).
8. Albert E.D.; Harms K.; Wank, R.; Steinbauer-Rosenthal, I.; Scholz, S.:
Segregation analysis of HL-A antigens and haplotypes in 50 families of patients with coeliac disease
Transplant. Proc. V, 1785-1789 (1973).
9. Albert E.D.; Andreas, A.; Mc Nicholas, A.; Scholz S.; and Kuntz, B.:
B- and T-cell specific alloantigens in man.
Scand. J. Immunology, Vol. 6, 427, 6-430 (1977)
10. Albert, E.D.; Rittner, Ch.; Scholz, S.; Kuntz, B.:
Three point-association of HLA-A, B, Bf haplotypes deduced in 200 parents of 100 families.
Scand. J. Immunology, 6, 459 (1977).

11. Albert, E.D.; Scholz, S.:
Das Haupthistokompatibilitätssystem (HLA) des Menschen:
Serologie, Genetik und klinische Bedeutung.
Immunforschung in Klinik und Labor, Fresenius-Stiftung,
S. 77 - 105 (1979).
12. Albertini, R.J.; Bach F.H.:
Histokompatibility studies using mixed leucocyte
cultures. Proceedings of the III. Annual Leucocyte
Culture Conference, pp. 379-391.
New York: Appleton Century Crafts, (1967).
13. Amos, D.B. and Bach, F.H.:
Phenotypic expression of the major histocompatibility
locus in man (HL-A) leucocyte antigens and mixed leu-
cocyte culture reactivity.
J.exp. Med. 128 (4), 623-637 (1968).
14. Armitage, P.:
Statistical Methods in Medical Research.
Blackwell, Oxford, (1971).
15. Arnason, B.G.; Fuller, T.C.; Lehrich, J.R.; Winn, J.H.:
Leucocyte antigens (HL-A) in multiple sclerosis.
Proceeding of the Transplantation Society Congress (ab-
stract), 8, (1972).
16. Asquith, P.:
Family studies in coeliac disease, in: Coeliac disease-
Proceedings of the Second International Coeliac Symposium,
edited by W.Th. J.M. Hekkens and A.S.Pena, Stenfert
Kroese (Leiden), pp. 322-329, (1974).
17. Bach, F.H., and Hirschhorn, K.:
Lymphocyte interaction: A potential histocompatibility
test in vitro.
Science 142, 813, 814, (1964).
18. Bach, F., and Voynow, N.K.:
One way stimulation in mixed leucocyte cultures.
Science 153, 545 - 547, (1966).
19. Bach, F.H.; Albertini, R.J.; Klostermann, H., and Day,
E.:
Evaluation of compatibility at the major histocompati-
bility locus in man.
Histocompatibility Testing, pp. 55-65, Munksgaard,
Copenhagen, (1967).
20. Bach, F.H.; Albertini, R.J.; Amos, D.B.; Ceppellini, R.
Mattiuz, P.L., and Miggiano, V.C.:
Mixed leucocyte culture studies in families with known
HL-A genotypes.
Transplant. Proc. 1, 339 - 341, (1969).

21. Behan, P.O.; Simpson, J.A.; Dick, H.:
Immune response genes in myasthenia gravis.
Lancet II, 1033 (1973).
22. Bertrams, J.; Kuwert, E.:
HL-A-antigen frequencies in multiple sclerosis:
significant increase of HL-A 3, HL-A 10 and W5
and decrease of HL-A 12 Europ. Neurol. 7, 74
(1972).
23. Bertrams, J.; Kuwert, E.; Liedtke, U.:
HL-A antigens and multiple sclerosis.
Tissue Antigens 2, 405 (1972).
24. Bertrams, J.; Kuwert, E.:
HL-A antigen segregation analysis in multiple
sclerosis.
Lancet II, 43-44 (1974).
25. Betuel, H.; Gebuhrer, L.; Percebois, H.; Descos, L.;
Minaire, Y.; et Bertrand, J.:
Association de la maladie coeliaque de l'adulte avec
HL-A-DRW 3 et DRW 7.
Gastroentérologie. Clinique et Biologique, S. 605-
606, (1979).
26. Bodmer, W.; Tripp, M. & Bodmer, J.:
Application of a fluorochromatic cytotoxicity assay
to human leucocyte typing, Histocompatibility Testing,
1967 pp. 341-350.
Munksgaard, Copenhagen (1967).
27. Bodmer, W.F.; Bodmer, J.G. and Tripp, M.:
Recombination between the LA and Four loci of
the HL-A-systems Histocompatibility Testing
1970, S. 187-191.
Munksgaard, Copenhagen (1970).
28. Booth, C.C.:
Definition of adult coeliac disease. In: Coeliac
Disease, ed. W.Th.J.H. Hekkens and A.S. Pena, Stenfert
Kroese, 17, (1974).
29. Brewerton, D.A.; Hart, F.D.; James, D.C.O.; Nicholls,
A.; Sturrock, R.D.; Caffrey, M.:
Ankylosing spondylitis and HL-A 27
Lancet I, 904-907 (1973).
30. Brewerton, D.A.; Caffrey, M.; Nicholls, A.; Walters,
D.; Oates, J.K.; James, D.C.O.:
Acute anterior uveitis and HL-A27
Lancet II, 994-996 (1973).
31. Brewerton, D.A.; Caffrey, M.; Nicholls, A.; Walters,
D.; Oates, J.; James, D.C.O.:
Reiter's disease and HL-A 27
Lancet II, 996-999 (1973).

32. Carter, C.; Sheldon, W.; Walker, C.:
The inheritance of coeliac disease.
Ann. hum. Genet. 23, 266 (1959).
33. Cavalli-Sforza, L.L.; Bodmer, W.F.:
The genetics of human populations
San Francisco: Freeman (1971).
34. Ceppellini, R.; E.S. Curtoni; P.L. Mattiuz; V.
Miggiano; G. Scudeller and A. Serra:
Genetics of leucocyte antigens. A family study
of segregation and linkage. Histokompatibility Testing
1967, pp. 149-185.
Munksgaard, Copenhagen (1967).
35. Cudworth, A.G. and J.C. Woodrow:
HL-A Antigens and Diabetes mellitus.
Lancet 2, 1153 (1974).
36. Coukell, A.; Bodmer, J.G.; Bodmer, W.F.:
HL-A types of 44 Hodgkin's patients
Transplant. Proc. III, 1291-1295 (1971).
37. Dausset, J.:
Leuco-Agglutinins IV. Leuco agglutinins and blood
transfusion Vox Sang. 4, 190 (1954).
38. Dausset, J.:
Iso-Leuco-anticorps.
Acta haemat. (Basel) 20, 156-166 (1958).
39. Dausset, J.; Rapaport, F.T.; Legrand, L.,
Colombani, J. & Marcelli-Bare, A.:
Skin allograft survival in 238 human subjects.
Role of specific relationships at the for
fene sites of the first and the second HL-A
loci. Histokompatibility Testing, 1970.
Munksgaard, Copenhagen, pp. 381-398 (1970).
40. Dausset, J. and Hors, J.:
L'Association France-dans le systeme HL-A.
La Nouvelle Presse medicale, pp. 1273-1279 (1972).
41. Degos L.; Dausset, J.:
Histokompatibility determinants in multiple sclerosis
Lancet I, 307-308 (1974).
42. Dicke, E.K.:
Coeliakie. Een onderzoek naar de naadelige invloed
van sommige graansorten op de lijder aan coeliakie.
Thesis, Utrecht (1950).

43. Ehlers, N.; Kissmeyer-Nielsen, F.; Kjerbye, K.E.; Lamm, L.
HL-A27 in acute and chronic uveitis
Lancet I, 99 (1974).
44. Evans, D.A.P.:
Coeliac Disease and HL-A 8.
Lancet 2, 1096 (1973).
45. Falchuk, Z.M.; Rogentine, G.N.; Strober, W.:
Predominance of histocompatibility antigen HL-A 8
in patients with gluten-sensitive enteropathy.
J. clin. Invest. 51, 1602 (1972).
46. Fritze, D.; Herrmann, C.; Smith, G.S.; Walford, R.L.:
HL-A types in myasthenia gravis.
Lancet II, 211 (1973).
47. Fritze, D.; Herrmann, C.; Naeim, F.; Smith, G.S.; Walford, R.L.:
HL-A antigens in myasthenia gravis
Lancet I, 240-243 (1974).
48. Gee, S.:
On the Coeliac affection.
St. Barth. Hosp. Rep. 24, 17 (1888).
49. Granditsch, F.; Ludwig, H.; Polymenidis, Z.; Wick, G.:
Coeliac disease and HL-A 8
Lancet II, 908 (1973).
50. Grosse-Wilde, H.; Netzel, B.; Mempel, W.; Ruppelt, W.; Brehm, G.; Bertrams, J.; Ewald, R.; Lenhard, V.; Rittner, Ch.; Scholz, S.; and Albert, E.D.:
Immunogenetics of LD determinants in man. Histo-
kompatibility Testing 1975. pp. 526-532.
Munksgaard, Copenhagen, Denmark (1975).
51. Haldane, J.B.S.:
The estimation and significance of the logarithm
of a ratio of frequencies.
Ann. hum. Genet. 20, 309-311 (1955).
52. Harms, K.; Granditsch, G.; Rossipal, E.; Ludwig H.; Polymenidis, Z.; Scholz, S.; Wank, R.; Albert, E.D.:
HL-A patients with coeliac disease and their
families Proceedings of the second Coeliac Symposium,
H.E. Stenfert Kroese, Leiden, S. 215-228 (1974).
53. Harms, K.:
Untersuchungen zur Diagnostik und Pathogenese der
Cöliakie.
Habilitationsschrift München (1977).

54. Harris, J.R.W.; Gelsthrope, K.; Doughty, R.W.;
Lee, D.; Morton, R.S.:
HL-A27 and W10 in Reiters syndrome and non-specific
urethritis
Acta Dermatovener (Stockholm) 55, 127-130 (1975).
55. Hekkens, W.Th.J.M.; Haex, A.J.Ch.; Willighagen,
R.G.J.:
Some aspects of gliadin fractionation and testing
by histochemical method.
Coeliac Disease., Ed. C.C. Booth p. 11 (1970).
56. Herter, C.A.:
On infantilism from chronic intestinal infection.
New York: Macmillan (1908).
57. Heubner, O.:
Über schwere Verdauungsinsuffizienz beim Kind jen-
seits des Säuglingsalters.
Jb. Kinderheilkunde 70, 667 (1909).
58. Hoffman, H.N.; Wollaeger, E.E.; Grennberg, E.:
Discordance for nontropical sprue (adultcoeliac
disease) in a monozygotic twin pair.
Gastroenterology 51, 36 (1966).
59. Hooff, J.P. van; Steen, G.J. van der; Schippers,
H.M.A. and Rood, J.J. van:
Efficiency of HL-A matching in Eurotransplant.
The Lancet, Dec. 30, 1385-1388 (1972).
60. Hors, I.; Fradellizi, D.; Feingold, N.; Dausset, J.:
Critical evaluation of histocompatibility in 179 renal
transplants
Lancet I, 609-612 (1971).
61. Jersild, C.; Sveygaars, A.; Fog, T.:
HL-A antigens and multiple sclerosis
Lancet I, 1240 (1972).
62. Joint Report of the Forth International Histocom-
patibility Workshop, Histokompatibilität Testing
1970, pp. 2-47, (P.J. Terasaki, ed.).
Munksgaard, Copenhagen 1971.
63. Joint Report from the Sixth International Histo-
kompatibilität Workshop Conference. II. Typing for
HLA-D (LD-I or MLC) determinants. Histokompatibilität
Testing 1975, pp. 414-458.
Munksgaard, Copenhagen (1976).
64. Joint Report Histokompatibilität Testing 1977,
pp. 23-378.
Munksgaard, Copenhagen (1978).

65. Jongsma, A.; van Someren, H.; Westerfeld, A.; Hagemeijer, A.; Pearson, P.:
Localisation of genes on human chromosomes by studies of human - chinese hamster somatic cell hybrids. Assignment of PGM 3 to chromosome C 6 and regionale mapping of the PGD, PGM1 and PEP - C genes on chromosome A 1.
Humangenetik 20, 195 (1973).
66. Kamer, J.H. van de; Weijers, H.A.; Dicke, W.K.:
Coeliac Disease IV.
An Investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action on patients with coeliac disease.
Acta paediat. (Uppsala) 42, 223 (1953).
67. Kasarda, D.D.; Nimmo, C.C., Bernardin, J.E.:
Structural aspects and genetic relationships of gliadins. In : Coeliac Disease. Ed. W.Th.J.M. Hekkens and A.S. Pena, p. 25 (1974).
68. Keuning, J.J.; Pena, A.S.; van Hoff, J.P.; van Leeuwen, A.; van Rood, J.J.:
HLA-DW 3 associated with coeliac disease.
Lancet I, S. 506-508 (1976).
69. Kissmeyer-Nielsen, F.; Kjerbye, K.E.:
Lymphocytotoxic microtechnique, Purification of lymphocytes by flotation. Histocompatibility Testing 1967, pp. 381-383.
Munksgaard, Copenhagen (1967).
70. Lamm, L.U.; Friedrich, U.; Bruun Petersen, G.; Jørgensen, J.; Nielsen, J.; Therkelsen, J.; Kissmeyer-Nielsen, F.:
Assignment of the major histocompatibility Complex to chromosome No. 6 in a family with pexicentric inversion.
Human Heredity 24, 273 (1974).
71. Lassus, A.; Tiilikainen, A.; Stubb, S.; Reunala, T.; Johansson, E.:
Circinate erosive balanitis ans HL-A27
Acta Dermatovener (Stockholm) 55, 199-201 (1975).
72. Legrand, L.; and Dausset, J.:
Immunogenetics of a new lymphocyte system.
Transpl. Proc. 7, 5-8, (1975).
73. Legrand, L., and Dausset, J.:
A second lymphocyte system (Ly-Li). Histocompatibility Testing 1975b, pp. 665-670, F. Kissmeyer-Nielsen, ed.; Munksgaard, Copenhagen (1975).
74. Leeuwen, A. van; Schuit, H.R.E.; and Rood, J.J. van.:
Typing for MLC (LD). I. The selection of non stimulator cells by MLC inhibition test using SD identical stimular or cells (MISIS) and flourescence antibodies studies.
Tissue Antigens 2, 152-154 (1973)

75. Li, C.C.:
Human Genetics Principles and Methods, ed. Li, C.C.,
p. 79-101, McGraw-Hill.
New York (1961).
76. Löw, B.; Messeter, S.; Mansson, S. & Lindholm, T.:
Crossing-over between the SD-2 (FOUR) and SD-3 (AJ)
loci of the human major histocompatibility
chromosomal region.
Tissue Antigens, 4, 405 (1974).
77. Ludwig, H.; Polymenidis, Z.; Granditsch, G.; Wick, G.:
HL-A1 und HL-A8 bei kindlicher Coeliakie.
Z. Immun.-Forsch. 146, 158-167 (1973).
78. Mackay, I.R.; Morris, P.J.:
Association of autoimmune active chronic hepatitis
with HL-A1, 8.
Lancet II, 793 (1972).
79. Mapstone, R.; Woodrow, J.C.:
Acute anterior uveitis and HL-A27
Lancet I, 681-682 (1974).
80. Mayr, W.R.:
Neue Untersuchung im Bereich des HL-A Systems: ein
dritter Locus mit serologisch nachweisbaren Merkmalen.
Folia Haematol. 101, 401 (1974).
81. McDonald, W.C.; Dobbins, W.O.; Rubin, C.E.:
Studies on the familial nature of coeliac sprue using
biopsy of the small intestine.
New Engl. J. Med. 272, 448 (1965).
82. McNeish, A.S.; Nelson, R.; Mackintosh, P.:
HL-A 1 and 8 in childhood coeliac disease.
Lancet I, 668 (1973).
83. Meeuwisse, G.:
Diagnostic criteria in coeliac disease, Round table
discussion of the Europ. Soc. For Paediatr. Gastroenterology.
Acta paediat. scand. 59, 461 (1970).
84. Mempel, W.; Albert, E.; and Burger, A.:
Further evidence for a Separate MLC-Locus.
Tissue Antigens 2, 250-254 (1972).
85. Mempel, W.; Grosse-Wilde, H.; Albert, E.; and Thierfelder, S.:
Atypical MLC reactions in HL-A typed related and
unrelated pairs.
Transplant. Proc. 5, 401-408 (1973).

86. Mempel, W.; Grosse-Wilde, H.; Baumann, P.; Netzel, B.; Steinbauer-Rosenthal, I.; Scholz, S.; Bertrams, J.; and Albert, E.D.:
Population genetics of the MLC response: Typing for MLC determinants using homozygous and heterozygous reference cells.
Transplant. Proc. 5, 1529-1534 (1973).
87. Mickey, M.R.; Terasaki, P.I.; Kreisler, M.; Albert, E.D. & Sengar, D.P.S.:
Analysis of histocompatibility data from 1000 kidney transplants.
Tissue Antigens, Vol.I, No. 2, 57-67 (1971).
88. Mylotte, M.; Egan-Mitchell, B.; McCarthy, C.F.; McNicholl, B.:
Incidence of coeliac disease in the West of Ireland.
Brit. med. J. 1, 703 (1971).
89. Mylotte, M.; Egan-Mitschell, B.; Fottrell, P.F.; McNicholl, B.; McCarthy, C.F.:
Family studies in Coeliac Disease.
Quart. J. Med. 171, 359 (1974).
90. Naito, S.; Namerow, N.; Mickey, M.R.; Terasaki, P.I.:
Multiple sclerosis association with HLA-A3.
Tissue Antigens 2, 1-4 (1972).
91. Nerup, J.; Platz, P.; Anderson, O.O.; Christy, M.; Lyngsoe, L.; Poulsen, J.E.; Ryder, L.P.; Nielson, L.S.; Thomsen, W.; Svejgaard, A.:
HLA-antigens and diabetes mellitus.
Lancet II, 864-866 (1974).
92. Oliver, R.T.D.; Sachs, J.A.; Festenstein, H.; Pegrum, G.D. and Moorhead, J.F.:
Influence of HLA matching, antigenic strength, and immune responsiveness on outcome of 349 cadaver renal grafts. 3 Years experience of the London Transplant Group.
The Lancet, Dec. 30, pp. 1381-1385 (1972).
93. Opelz, G.; Terasaki, P.I.:
The role of the HLA systems in kidney transplants.
Transplant. Proc. IV, 433-438 (1972).
94. Patel, R.; Terasaki, P.I.:
Significance of the positive cross match test in kidney transplantation.
New Engl. J. Med. 280, 735 (1969).
95. Paulley, J.W.:
Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea, jejunal and lymph node biopsies.
Brit. med. J. 2, 1318 (1954).

107. Sakula, J. and M. Shiner:
Coeliac disease with atrophy of the small intestinal
mucosa.
Lancet 2, 876 (1957).
108. Sandberg, L.; Thorsby, E.; Kissmeyer-Nielsen, F.
& Lindholm, A.:
Evidence of a third sublocus within HL-A chromosomal
region.
Histocompatibility Testing, 1970 (Ed.)
Terasaki, P.I.pp. 165-170. Copenhagen: Munksgaard (1970).
109. Schlosstein, I.; Terasaki, P.I.; Bluestone, R.;
Pearson, C.M.:
High association of an HL-A antigen, W-27, with ankylosing
spondylitis.
New Engl. J. Med. 288, 704-706 (1973).
110. Schoefinius, H.H.; Braun-Falco, O.; Scholz, S.;
Steinbauer-Rosenthal, I.; Wank, R.; E.D. Albert:
Histocompatibilitätsantigene (HL-A) bei Psoriasis.
Dtsch. med. Wschr. 99, 440 (1974).
111. Shmerling, D.H.; Leisinger, P.; Prader, A.:
On the familial accurence of coeliac disease. (abstract)
Asta. paediat. scand. 61, 501 (1972).
112. Solheim, B.G.; Ek, J.; Thune, P.O.; Baklien, K.;
Bratlie, A.; Rankin, B.; Thoresen, A.B. and Thorsby, F.:
HLA antigens in dermatitis herpetiformis and coeliac
disease.
Tissue Antigens, 7, 57 (1976).
113. Steinbauer-Rosenthal, I.; Schattenkirchner, M.;
Schürer, W.; Wank, R.; Scholz, S.; Schiessl, B.;
Brandenburg, H.; Albert, E.D.:

HL-A27 in patients with ankylosing spondylitis (AS)
Immun.-Forsch. 147, 6 (1974).
114. Stokes, P.L.; Asquit, P.; Holmes, G.K.T.; Machintosh,
P.; Cooke, W.T.:
Histocompatibility antigens associated with adult coeliac
disease.
Lancet II, 162 (1972).
115. Storb, R.; Bryant, J.I.; Buckner, C.D.; Clift, R.A.;
Fefer, A.; Fialkow, P.J.; Hohnson, F.L.; Neimann, P.
and Thomas E.D.:
Allogeneic Marrow Grafting for Acute Lymphoblastic
Leukemia: Leukemic Relapse.
Transplantation Proceedings, Vol V, 1, pp. 923-926, (1972).
116. Sveijgaard, A.; Staub-Nielsen, L.; Ryder, L.P.;
Kissmeyer-Nielsen, F.; Sandberg, L.; Lindholm, A. and
Thorsby, E.:
Subdivisions of HL-A antigens, Evidence of a "new"
segregant series.
Histocompatibility Testing 1972, p. 465, Munksgaard,
Copenhagen (1973).

117. Sveijgaard, A.; Nerup, J.; Platz, P.; Ryder, L.P.; Staub-Nielsen, L.; Thomsen, M.:
Human HL-A histocompatibility antigens and disease associations. A survey.
Transplantation Review 22, 148 (1975).
118. Terasaki, P.I.; McClelland, J.D.:
Microdot assay of human serum cytotoxins,
Nature (London) 206, 998-1000 (1964).
119. Thomsen, M.; Platz, P.; Marks, J.; Ryder, L.P.; Shuster, S.; Sveijgaard, A. and Young, S.H.:
Association of LD-8a and LD-12a with dermatitis herpetiformis.
Tissue Antigens, 7, 60 (1976).
120. Thorsby, E. and Piazza, A.:
Joint Report of the sixth internat. Histocompat. Workshop Conference. II. Typing for HLA-D (LD-I or MLC) determinants. Histocompatibility Testing 1975.
Munksgaard, Copenhagen, pp. 414-422 (1975).
121. Ting, A.; Mickey, M.R. and Terasaki, P.I.:
B-lymphocyte alloantigens in Caucasians.
J. Exp. Med. Vol 143, S. 981-986, (1976).
122. Tweel, J.G. van den, Blussé van Oud Alblas, A.; Keuning, J.J.; Goulmy, E.; Termijtelen, A.; Bach, M.L. and Rood, J.J. van:
Typing for MLC (LD). I. Lymphocytes from cousin-marriage offspring as typing cells.
Transplant. Proc. 5, 1535 (1973).
123. Visakorpi, J.K.:
Definition of coeliac disease in Children. In: Coeliac Disease. Ed. W.Th.J.M. Hekkens and A.S. Pena, Stenfert Kroese, Leyden, p. 10 (1974).
124. Walker-Smith, J.A.:
Discordance for childhood coeliac disease in monozygotic twins.
Gut 14, 374 (1973).
125. White, A.G.; Barnetson, R.S.C.; Da Costa, J.A.G.; McClelland, D.B.L.:
The incidence of HL-A antigens in dermatitis herpetiformis
Brit. Jour. Derm. 89, 133-136 (1973).
126. Woolf, B.:
On estimating the relation between blood group and disease.
Ann. hum. Genet. 19, 251-253 (1955).

127. Yankee, R.A.; Grumet, R.C.; Rogentine, G.N.:
Platelet transfusion therapy. The selection of compatible
platelet donors for refractory patients by lymphocyte
HL-A typing.
New Engl. J. Med. 27, 1208-1212 (1969).
128. Yunis, E.J., and Amos, D.B.:
Three closely linked genetic systems relevant to trans-
plantation.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 68, 3031-3035 (1971).
129. Zachariae, H.; Hjortshoj, A.; Kissmeyer-Nielsen, F.;
Svejgaard, A.; Svejgaard, E.; Zachariae, E.:
HL-A antigens and psoriatic arthritis.
Acta Dermatovener. (Stockholm) 54, 443-447 (1974).

Für die freundliche Überlassung des Themas, für seine Unterstützung und Anregungen danke ich Herrn Professor Dr. Albert recht herzlich. Dies gilt auch für die Hilfe von Herrn Privatdozent Dr. Harms und Frau Dr. Bertele sowie von Herrn Dr. Scholz, Frau H. Wetz Müller, Frau B. Schießl, Frau A. Andreas und Frau A. McNicholas bei der Durchführung der Versuche. Für die Reinschrift bedanke ich mich bei Fräulein K. Nilaj.

LEBENS LAUF

Am 11. Juni 1952 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Karl-Theodor Emmel und seiner Ehefrau Maria, geborene Riedel in München geboren. Meine Volksschulzeit verbrachte ich in München-Harlaching. Nach vierjährigem Besuch des neusprachlichen Gymnasiums am Anger in München wechselte ich für zwei Jahre nach Garmisch-Partenkirchen in das Internat der Armen Schulschwestern. 1971 legte ich die Reifeprüfung in München ab.

Nach einem Semester der Agrarwissenschaften an der Technischen Universität München in Weihenstephan, drei Semestern Chemie und zwei Semestern Studium der Medizin an der Universität München immatrikulierte ich mich für das Fach Zahnmedizin an der Universität Kiel. Im April 1976 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und im Dezember 1978 die zahnärztliche Prüfung. Am 18. Dezember 1978 wurde mir die Bestallung als Zahnärztin erteilt.

Seit August 1977 bin ich mit dem Rechtsanwalt Dr. Frank-Peter Reissinger verheiratet.

Zur Zeit arbeite ich als Ausbildungsassistentin in einer Münchner Fachzahnarztpraxis für Kieferorthopädie.

